Beschränkt f. d. Austausch

Untersuchungen über Kryptosterin

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Erich J o o s t
aus Hamburg

Berichterstatter: Geheimrat Prof. Dr. H. W i e l a n d
Tag der mündlichen Prüfung: 23. Februar 1939

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus Liebigs Annalen der Chemie 546. Band (1941).

Zur Kenntnis des Kryptosterins.

Über die Nebensterine der Hefe. VI

von *Heinrich Wieland* und *Erich Joost**).

Mit 2 Figuren im Text

[Aus dem Chemischen Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften zu München.]

(Eingelaufen am 6. November 1940.)

Kryptosterin, $C_{30}H_{49}OH$, enthält wie das ihm sehr nahestehende und mit ihm isomere *Lanosterin* vier Ringe, 2 Doppelbindungen und eine sekundäre alkoholische OH-Gruppe[1]). Ob strukturelle Beziehungen zwischen diesen Alkoholen, die in der Natur ziemlich verbreitet zu sein scheinen[2]), zu den eigentlichen Sterinen oder zu den Triterpenen bestehen, ist noch nicht sichergestellt. Man muß ihre Konstitution ohne Anlehnung an bekannte Vorlagen zu ermitteln suchen. Einige kleine Schritte zu diesem Ziel sind in der vorliegenden Untersuchung unternommen.

Kryptosterin addiert leicht Chlorwasserstoff an die reaktionsfähige Doppelbindung. Mit feuchtem Silberoxyd läßt sich das Chlor durch Hydroxyl ersetzen und man gelangt so zu einem *Kryptosten-diol*, das sich zu einem *Diketon* oxydieren läßt. Beziehungen zwischen den beiden CO-Gruppen in diesem Diketon ergeben sich aus seinem Verhalten gegen *Hydrazinhydrat*. Es entsteht dabei eine sauerstoffreie Verbindung $C_{30}H_{48}N_2$, die einen heterocyclischen Ring enthalten muß. Es kann ein Fünfring (a) oder ein Sechsring (b) vorliegen, je nach-

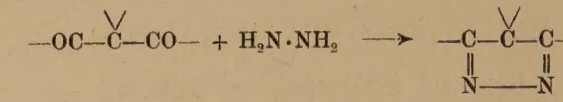
---

*) Dissertation Universität München 1939.

[1]) Vgl. A. **529**, 68 (1937).

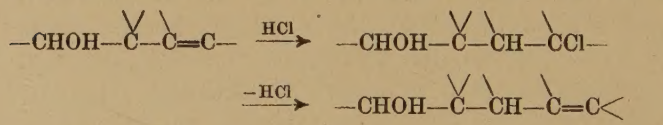
[2]) Hierher gehören u. a. die *Tritisterine* aus Weizenkeimlingen [Karrer u. Salomon, Helv. **20**, 424 u. 1422 (1937)] und die *Orysterine* aus Reiskeimen [Todd, Bergel, Waldmann u. Work, Bioch. Jl. **31**, 2247 (1937)].

dem, ob die beiden Ketogruppen in 1,3- oder in 1,4-Stellung sich zueinander befinden.

a) 

b)

Das Diketon aus Kryptosterin gibt keine Enolreaktion, was gegen die Formulierung (a) spricht, es sei denn, das mittlere C-Atom enthielte keinen Wasserstoff. Aber auch dann wäre die 1,3-Anordnung auszuschließen; denn Kryptosterin-hydrochlorid spaltet mit alkohol. Kali Chlorwasserstoff ab, bildet aber nicht das ursprüngliche Kryptosterin zurück, sondern ein isomeres mit veränderter Lage der Doppelbindung. Diese Isomerisation ist nur auf Grund der Formulierung (b) möglich:



Wir schließen aus diesen Beobachtungen, daß die aktive Doppelbindung des Kryptosterins sich in β,γ-Stellung zur alkoholischen Gruppe befindet.

Oxydationsversuche mit Chromsäure führten beim Kryptosterin anfangs zu keinem Ergebnis. Aus Dihydrokryptosterin wurde bei einer Reaktionstemperatur von 70—80° in geringer Menge eine Verbindung $C_{30}H_{48}O_2$ erhalten. In ihr ist wahrscheinlich die sek. Alkoholgruppe zu Carbonyl dehydriert und eine der „passiven" Doppelbindung benachbarte CH_2-Gruppe ebenfalls zu Carbonyl oxydiert worden. Ließ man die Oxydation mit Chromsäure bei etwas höherer Temperatur vor sich gehen, so konnte man über das Semicarbazon eine *gelbe*, neutrale Substanz $C_{30}H_{46}O_3$ isolieren. Es liegt am nächsten, anzunehmen, daß hier eine zweite, der Doppelbindung benachbarte CH_2-Gruppe oxydiert worden ist, und daß ein *Triketon* vorliegt. Durch heiße alkoholische Lauge wird das Triketon in ein höher schmelzendes Isomeres übergeführt.

Diese Umsetzungen erinnern lebhaft an Beobachtungen, die bei der Untersuchung der *Chinovasäure* gemacht worden sind. Brenzchinovasäure wird durch Chromsäure genau so, wie wir es hier annehmen, zu einer gelben Säure oxydiert, in der aus zwei der Doppelbindung benachbarten Methylengruppen zwei Ketogruppen geworden sind[1]). Das Chromophor ist in beiden Fällen das System —OC—C=C—CO—; das Maximum im UV-Spektrum liegt für die beiden hier verglichenen Verbindungen fast bei der nämlichen Wellenlänge (268 mμ).

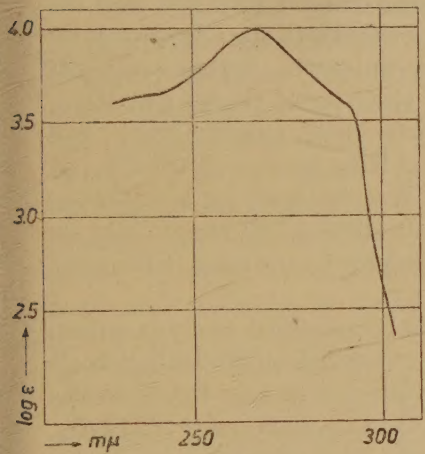


Fig. 1.

Triketon $C_{30}H_{46}O_3$
in Dioxan.
$\lambda_{max} = 268 \pm 2$ mμ,
$\log \varepsilon = 3{,}97 \pm 0{,}02$.

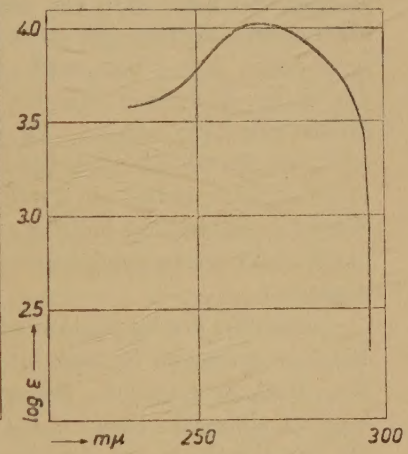


Fig. 2.

Oxydiketocarbonsäure $C_{28}H_{22}O_5$
in Dioxan.
$\lambda_{max} = 270 \pm 2$ mμ,
$\log \varepsilon = 4{,}03 \pm 0{,}02$.

Überhaupt scheinen die Alkohole $C_{30}H_{50}O$ den Triterpenen näher zu stehen, als den eigentlichen Sterinen. Der charakteristische Unterschied der Farbreaktionen, vor allem der von Liebermann-Burchard weist schon darauf hin; dazu kommen die ganz verschiedenartigen Produkte der Selendehydrierung[2]). Wir finden ferner bei unseren Oxydationsversuchen Säuren von verminderter Molekulargröße, deren

[1]) A. **539**, 219 (1939).
[2]) H. Schulze, H. **238**, 35 (1936).

Zusammensetzung die Bindung der OH-Gruppe an C_3 in Frage stellt. Die abschließende Kennzeichnung dieser Säuren ist allerdings bei ihrer schwierigen Zugänglichkeit noch nicht gesichert.

So enthalten die sauren Abbauprodukte, die neben dem Triketon bei der Oxydation von Dihydro-kryptosterin entstehen, eine Säure, die der Zusammensetzung $C_{26}H_{38}O_2$ oder $C_{27}H_{40}O_2$ entspricht, die jedenfalls das Sauerstoffatom der ursprünglich vorhandenen OH-Gruppe verloren haben muß. Mit einem gewissen Vorbehalt, dessen Notwendigkeit oben begründet ist, kann man aus diesem Befund schließen, daß die alkoholische Gruppe an einer Seitenkette des Kryptosterins ihren Sitz hat. Der stark verminderte Wasserstoffgehalt deutet an, daß einer von den vier Ringen bei der Oxydation aromatisch geworden ist. Es wäre nicht ausgeschlossen, daß an dieser Aromatisierung eine am Ring gebundene OH-Gruppe beteiligt wäre, indem sie durch Wasserabspaltung zur Bildung einer Doppelbindung beiträgt. In diesem Fall könnte man an die Wegoxydation einer Isopropylgruppe aus einer Seitenkette denken.

Auch bei der Oxydation von Kryptosterin und von seinem Benzoat entstehen Säuren, die weniger C-Atome enthalten als das Ausgangsmaterial. So erhielten wir aus Kryptosterinbenzoat eine *gelbe* Säure $C_6H_5CO.O.C_{29}H_{43}O_4$ oder $.C_{28}H_{41}O_4$. Da das UV-Spektrum das gleiche Maximum besitzt, wie das des Triketons aus Dihydrokryptosterin, darf man wohl annehmen, daß das gleiche chromophore System wie dort entstanden ist. Diese Säure zeigt gegen Permanganat, Brom und Tetranitromethan gesättigten Charakter. Die reaktionsfähige Doppelbindung ist also von der Oxydation betroffen worden. Der schön krystallisierte Methylester beweist das Vorhandensein einer Carboxylgruppe, und wenn man die Formel auflöst, gelangt man zu einer Monocarbonsäure, die vier Ringe mit *einer* (passiven) Doppelbindung enthält. $2CH_2$-Gruppen sind in Carbonyl übergeführt; die benzoylierte OH-Gruppe ist noch vorhanden. Die durch Verseifung des Benzoatesters gewonnene Säure stimmt am besten auf die Formel $C_{28}H_{42}O_5$, sie würde der Abspaltung von 2 C-Atomen bei der Oxydation von Benzoyl-kryptosterin entsprechen.

Diese Oxysäure ließ sich mit Chromsäure zu einer Triketosäure $C_{28}H_{40}O_5$ oxydieren, die wir auch, wiewohl in sehr geringer Ausbeute, aus den Produkten der direkten Oxydation von Kryptosterin isolieren konnten. Die geschilderten Beobachtungen, die bei der Fortsetzung der Untersuchung nachgeprüft werden, könnten auf das Vorliegen einer Seitenkette $-\overset{|}{C}=CH-CH_3$ oder $H_3C-\overset{|}{C}=CH_2$ im Kryptosterin und damit auf eine nahe Verwandtschaft mit dem isomeren *Lupeol* $C_{30}H_{50}O$ hindeuten[1]).

Wir haben das Kryptosterin auch mit *Osmiumtetroxyd-Wasserstoffperoxyd* nach Criegee[2]) oxydiert. Dabei wurde eine schön krystallisierte Säure in etwa 20-proc. Ausbeute erhalten, deren Analysen nur mit einer Formel $C_{25}H_{40}O_3$ (weniger gut mit $C_{24}H_{38}O_3$) in Einklang zu bringen sind. Auf diese Formel stimmen auch die Werte für den Methylester. Unsere Bemühungen, die abgespaltenen C-Atome als einheitliche Verbindung zu fassen, sind vergeblich gewesen, so daß ein Zerfall dieses Bestandteils der Molekel anzunehmen ist. Die Säure zeigt noch die tiefgelbe Farbreaktion des Kryptosterins nach Liebermann; sie dürfte daher noch eine Doppelbindung und vielleicht eine OH-Gruppe enthalten. Dann wären auch die 4 Ringe noch vorhanden und der Verlust an C-Atomen ginge auf Kosten einer Seitenkette. Es fällt freilich schwer, bezüglich der aktiven Doppelbindung einen Zusammenhang mit den bei der Chromsäureoxydation erhaltenen Ergebnissen herzustellen und wir wollen vorläufig die Diskussion der Säure $C_{25}H_{40}O_3$ zurückstellen.

Die Oxydation von *Lanosterin* mit Osmiumtetroxyd-Wasserstoffperoxyd ergab ebenfalls eine Säure $C_{25}H_{40}O_3$. Obwohl wir den Schmelzpunkt der isomeren Säure aus Kryptosterin nicht ganz erreicht haben, sprechen doch die gleichen Drehwerte der Säuren, sowie die Identität von Schmelzpunkt und Drehwert der Methylester dafür, daß die beiden Säuren identisch sind. Der definitive Beweis wäre noch durch Vergleich weiterer Derivate zu führen.

---

[1]) Vgl. Ruzicka u. Rosenkranz, Helv. **23**, 1311 (1940).
[2]) A. **522**, 75 (1936).

Versuche.

Kryptosterin-hydrochlorid.

1 g Kryptosterin wird in 40 ccm trockenem Chloroform gelöst und bei aufgesetztem Rückflußkühler wird ein trockener Chlorwasserstoffstrom 1 Stunde lang eingeleitet. Nach dem Abdampfen des Chloroforms wurde das Reaktionsprodukt aus Aceton-Methanol krystallisiert. Schmelzp. 166—168° (Zers.). Die Substanz ist zur Weiterverarbeitung genügend rein. Durch dreimalige Umkrystallisation ließ sich der Schmelzpunkt auf 168—170° bringen. Ausbeute 95 Proc.

Das Hydrochlorid ist leicht löslich in Petroläther, Essigester und Aceton, schwer löslich in den Alkoholen. Bei längerem Umkrystallisieren, vor allem aus höhersiedenden Lösungsmitteln, wie Äthylalkohol, wird der Schmelzpunkt niedriger und unschärfer.

4,487 mg Subst.: 1,22 mg AgCl.

$C_{30}H_{51}OCl$ (462) Ber. Cl 7,6 Gef. Cl 6,73.

Spez. Drehung: 17,1 mg in 2 ccm Chloroform, 1 dm;

$\alpha = +0{,}37°$; $[\alpha]_D^{20} = +43{,}2°$.

Kryptostendiol.

1 g Kryptosterin-hydrochlorid wurde in der Mischung von 50 ccm Methanol und 20 ccm Benzol und einigen Tropfen Wasser gelöst. Dann wurde feuchtes Silberoxyd (aus 1 g Silbernitrat) hinzugefügt. Die Suspension wurde 48 Stunden auf der Maschine geschüttelt, die Lösungsmittel i. V. verdampft, der Rückstand mit Wasser verdünnt und abgesaugt. Krystallisation aus Aceton, in dem die Nebenprodukte sehr leicht löslich sind, ergibt 750 mg des Diols, das nach einmaliger Umkrystallisation zur Weiterverarbeitung verwandt wurde. Das reine Diol schmilzt bei 161—163° und bildet breite unregelmäßige Nadeln. Ausbeute 75—85 Proc.

4,322 mg Subst.: 12,840 mg CO_2, 4,62 mg H_2O (bei 80° i. V. getr.).

$C_{30}H_{52}O_2$ (444)	Ber.	C 81,01	H 11,79
	Gef.	81,03	11,95.

Spez. Drehung: 18,4 mg in 2 ccm Chloroform, 1 dm;

$\alpha = +0{,}35°$; $[\alpha]_D^{20} = +38{,}2°$.

Kryptostendion.

600 mg Kryptostendiol wurden in 75 ccm stabilem Eisessig gelöst und bei einer Temperatur von 40—45° tropfenweise im Verlaufe von einer Stunde unter mechanischem Rühren mit einer Lösung von 400 mg Chromsäure in 20 ccm 90-proc. Eisessig versetzt. Dann wurde $^1/_2$ Stunde lang auf 55° erwärmt, mit SO_2 reduziert, angesäuert und noch heiß in 200 ccm Wasser gegossen. Das Reaktionsprodukt schied sich zunächst amorph ab, krystallisierte jedoch nach Stehen über Nacht. Es wurde abgesaugt und zweimal aus Methanol umkrystallisiert; Schmelzp. 143—146°. Filtration durch eine Aluminiumoxydsäule erhöhte den Schmelzpunkt auf 148 bis 151° und nach weiterer mehrfacher Umkrystallisation aus Aceton und Methanol wurde der konstante Schmelzpunkt von 154—156° erhalten. Die Reinigung der Substanz ist sehr verlustreich. Das Diketon krystallisiert aus Benzol in Nadeln, aus Methanol und Aceton in glasklaren Prismen. Gegen Tetranitromethan ist es stark ungesättigt. Enol-Reaktion wird nicht gegeben.

3,729, 4,537 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 10,971, 13,355 mg CO_2; 3,723, 4,46 mg H_2O.

$C_{29}H_{48}O_2 \cdot {}^1/_2 H_2O$ (449)	Ber.	C 80,11	H 11,00
$C_{29}H_{48}O_2$ (440)	„	„ 81,74	„ 10,99
	Gef.	„ 80,24, 80,28	„ 11,17, 11,00.

Spez. Drehung: 22 mg in 3 ccm Chloroform, 1 dm:

$$\alpha = -0{,}08°; \; [\alpha]_D^{22} = -0{,}58°.$$

Kondensationsprodukt von Kryptostendion und Hydrazin.

80 mg Diketon wurden in 3 ccm abs. Alkohol gelöst und mit 0,06 ccm 50-proz. Hydrazinhydrat 6 Stunden gekocht. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurde abgesaugt und getrocknet. Das Kondensationsprodukt wurde in Benzol heiß gelöst und nach Zugabe von Methanol krystallisierte es in feinen Nadeln aus. Nach dreimaligem Umkrystallisieren wurde der konstante Schmelzp. von 282—284° (Zers.) erreicht.

4,382 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 13,240 mg CO_2, 4,40 mg H_2O.

$C_{29}H_{48}N_2$ (436)	Ber.	C 82,48	H 11,09
	Gef.	„ 82,41	„ 11,24.

Abspaltung von Chlorwasserstoff
aus Kryptosterinhydrochlorid.

1 g Kryptosterin-hydrochlorid wurde mit 100 ccm 3-proz. alkoholischer Kalilauge 2 Stunden lang gekocht. Darauf wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser ausgefällt und abgesaugt. Die nach dem Trocknen erhaltene Substanz wurde durch einstündiges Kochen in 10 ccm Essigsäureanhydrid acetyliert und wiederum mit Wasser gefällt und abgesaugt. Durch Krystallisation aus Aceton ließ sich eine gute Reinigung erreichen. Neunmaliges Umkrystallisieren ergab unregelmäßige Blättchen von *Isokryptosterinacetat*, die bei 159—161° konstant schmolzen.

3,795 mg Subst. (bei 80° i. H. V. getr.): 11,485 mg CO_2, 3,82 mg H_2O.

$C_{32}H_{52}O_2$ (468)	Ber.	C 82,05	H 11,19
	Gef.	„ 82,54	„ 11,26.

Spez. Drehung: 37,9 mg in 2 ccm Chloroform;

$$l = 99{,}7 \text{ mm}, \alpha = +0{,}64^0, [\alpha]_D^{22} = +33{,}7^0.$$

20 mg des Acetats wurden in 3 ccm 3-proz. methylalkoholischer Kalilauge 3 Stunden gekocht. Das Verseifungsprodukt wurde mit Wasser ausgefällt, abgesaugt und getrocknet. Krystallisation aus Methanol-Aceton ergab das isomere Kryptosterin in feinen Nadeln vom Schmelzpunkt 154°. Krystallform und Löslichkeitseigenschaften sind denen des Kryptosterins ähnlich.

1 g Kryptosterin-hydrochlorid wurde mit 2,5 g wasserfreiem Natriumacetat in 90 ccm abs. Äthylalkohol $6^1/_2$ Stunden gekocht. Das ausgefällte Reaktionsprodukt wurde durch Kochen in 12 ccm Essigsäureanhydrid acetyliert. Häufiges Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol und Aceton ergab bei 160° schmelzende Blättchen, die mit den obigen identisch waren. Die Ausbeute war auch bei dieser Reaktion sehr schlecht.

Oxydation von Kryptosterin-hydrochlorid.

0,5 g Hydrochlorid wurden in 100 ccm stabilem Eisessig suspendiert und mit einer Lösung von 400 mg CrO_3 in 20 ccm 90-proz. Eisessig tropfenweise im Verlauf von 1 Stunde bei 45° versetzt. Nach 20 Minuten trat völlige Lösung ein. Es wurde dann noch eine weitere halbe Stunde auf 55° erwärmt und nach Reduktion der überschüssigen Chromsäure in Wasser gegossen. Die Reaktionslösung wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet und das bereits auf anderem Wege[1]) erhaltene Chlorketon aus Methanol krystallisiert. Nach einmaliger Umkrystallisation wurde ein Schmelzp. von 130—133° erhalten.

Oxydation von Dihydro-kryptosterin.

a) *Kryptostendion.* 0,5 g Dihydro-kryptosterin werden in 50 ccm stabilem Eisessig gelöst und unter mechanischer

[1]) A. 529, 81 (1937).

Rührung bei 70° im Verlaufe von 1 Stunde mit einer Lösung von 0,5 g CrO_3 in 20 ccm 90-proc. Eisessig tropfenweise versetzt. Im Verlaufe der zweiten halben Stunde wird die Temperatur langsam auf 80° gesteigert. Nach beendeter Zugabe wird noch 1 Stunde weiter erhitzt und die Reaktionslösung dann in Wasser gegossen. Die Substanz flockt auch nach längerem Stehen nicht aus und wird deswegen ausgeäthert. Die Ätherlösung wird mit Natronlauge von sauren Bestandteilen befreit, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Nach dem Abdampfen des Äthers bleiben 360 mg Neutralteile, von denen aus Methanol nach längerem Reiben 35 mg krystallisieren. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren blieb der Schmelzpunkt bei 144 bis 146° konstant. Die Substanz krystallisiert in dünnen unregelmäßigen Blättchen, gibt mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung und bei der Liebermann-Reaktion eine wesentlich schwächere Gelbfärbung als Kryptosterin.

4,308 mg Subst. (bei 100° i. Hochv. getr.): 12,925 mg CO_2, 4,35 mg H_2O.

$C_{30}H_{48}O_2$ (440)	Ber.	C 81,74	H 11,01
	Gef.	„ 81,82	„ 11,30.

Aus den Mutterlaugen der Krystallisation scheidet sich nach dem Einengen eine geringe Menge Kryptostenon aus.

b) *Säure* $C_{27}H_{40}O_2$. 1,2 g Dihydro-kryptosterin wurden in 100 ccm stabilem Eisessig gelöst und unter mechanischer Rührung bei 80—85° im Verlaufe von 2 Stunden mit einer Lösung von 2 g CrO_3 in 40 ccm 90-proc. Eisessig tropfenweise versetzt. Daraufhin wurde die Lösung mit SO_2 reduziert und in Wasser gegossen. Nach einigem Stehen wurde ausgeäthert und die Ätherlösung mit verdünnter Natronlauge ausgezogen. Nachdem die Essigsäure entfernt war, färbten sich die Laugen intensiv rot. Aus den alkalischen Auszügen schied sich nach mehrstündigem Stehen ein Na-Salz in gleichmäßigen Nadeln ab. Die Krystalle wurden abzentrifugiert, mit verdünnter Lauge gewaschen, wieder zentrifugiert und abgesaugt, da sie durch Zentrifugieren nicht farblos zu erhalten waren. Auf dem Filter ließen sich die Krystalle mit einem Tropfen Wasser auswaschen. Nach dem Trocknen wurden 30 mg farbloses Salz erhalten.

Die krystallinen Na-Salze wurden in Wasser suspendiert und mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Die ausfallende Säure wurde in Äther aufgenommen und der Äther getrocknet. Nach dem Abdampfen des Äthers wurde die Säure aus Methanol dreimal umkrystallisiert, wobei der konstante Schmelzpunkt von 195° erhalten wurde. Die Säure krystallisiert in langen Nadeln. Auch aus Eisessig läßt sie sich gut in Nadeln krystallisieren. Mit $C(NO_2)_4$ entsteht keine Gelbfärbung und die Liebermann-Burchard-Reaktion ist negativ.

3,743 mg Subst.: 11,190 mg CO_2, 3,38 mg H_2O.

$C_{27}H_{40}O_2$ (396)	Ber.	C 81,74	H 10,19
$C_{26}H_{38}O_2$ (382)		„ 81,6	„ 10,0
	Gef.	„ 81,53	„ 10,1.

Auch die Formel $C_{28}H_{42}O_2$ (C = 81,95, H = 10,24) kommt allenfalls in Betracht.

c) *Triketon* $C_{30}H_{46}O_3$. Die Neutralteile, die nach dem Abdampfen des Äthers erhalten werden, betragen etwa 40 Proc. der eingesetzten Substanz und geben eine geringe Krystallisation von Kryptostenon. Der Rest war nicht weiter zur Krystallisation zu bringen und wurde deshalb im Hochvakuum bei 0,01 mm destilliert. Bei 220—250° ging ein leicht gelbgefärbtes Destillat über, das in Alkohol aufgenommen und 1 Stunde lang mit alkoholischer Semicarbazid-Lösung gekocht wurde. Dabei schieden sich sehr bald gelbe Flocken aus, die nach dem Absaugen aus Äthanol–Benzol krystallisiert wurden. Es bildeten sich gelbe kompakte Nadeln vom Schmelzp. 252 bis 254° (Zers.). Adsorption an Aluminiumoxyd brachte keine weitere Reinigung des *Semicarbazons*.

4,272 mg Subst. (bei 100° i. Hochv. getr.): 11,455 mg CO_2, 3,68 mg H_2O. — 3,904 mg Subst.: 0,291 ccm N_2.

$C_{31}H_{49}O_3N_3$ (507)	Ber.	C 72,73	H 9,7	N 8,22
	Gef.	„ 73,13	„ 9,65	„ 8,22.

100 mg des Semicarbazons wurden in 2 ccm Eisessig gelöst und mit 2 ccm konz. Salzsäure versetzt. Die Mischung wurde 10 Min. auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sich das Keton ölig abschied. Es ließ sich mit Äther ausziehen und krystallisierte aus Methanol in breiten, gelben Nadeln vom Schmelzpunkt 102—103°.

4,250 mg Subst. (bei 80° i. Hochv. getr.): 12,360 mg CO_2, 3,85 mg H_2O.

$C_{30}H_{46}O_3$ (454)	Ber.	C 79,30	H 10,22
	Gef.	„ 79,32	„ 10,14.

Einwirkung von konz. Alkali auf das Triketon.

50 mg des Triketons wurden mit 5 ccm 10-proz. methylakoholischer Kalilauge aufgekocht. Beim Erkalten schieden sich Nadeln ab. Nach 4-tägigem Stehen vermehrte sich die Abscheidung nicht mehr und wurde abgesaugt. Die Substanz läßt sich aus Benzol-Methanol in Nadeln krystallisieren, die bei 231—232° konstant schmolzen.

3,508 mg Subst. (bei 130° i. Hochv. getr.): 10,258 mg CO_2, 3,232 mg H_2O.

$C_{30}H_{46}O_3$ (454)	Ber.	C 79,30	H 10,22
	Gef.	„ 79,75	„ 10,31.

Oxydation von Kryptosterinbenzoat.

1 g Kryptosterinbenzoat wird in 100 ccm stabilem Eisessig suspendiert und bei einer Temperatur von 50—55° im Verlaufe einer Stunde mit einer Lösung von 2 g CrO_3 in etwas Wasser und 25 ccm Eisessig versetzt. Nach dieser Zeit ist das Kryptosterinbenzoat in Lösung gegangen. Das Reaktionsgemisch bleibt noch 1 Stunde bei der gleichen Temperatur und wird dann nach Zugabe von wenig schwefliger Säure durch Wasser gefällt. Nach dem Trocknen werden die ausgefällten Säuren in Äther aufgenommen und mit Sodalösung ausgeschüttelt. Die sehr schleimigen Natriumsalze, die sich auch nach längerem Stehen im Scheidetrichter nicht vom Äther getrennt haben, lassen sich durch kurzes Zentrifugieren abtrennen. Die wäßrige Schicht ergibt nach dem Ansäuern 700—800 mg gelblicher Säure, von der aus Eisessig 300 mg krystallisieren. Der Schmelzpunkt liegt unscharf zwischen 190 und 200°. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz aus Essigester, Dioxan, Methanol und Eisessig krystallisiert (auch durch Extraktion mit absolutem Äther aus der Hülse läßt sich eine schöne Krystallisation erreichen), jedoch konnte auch nach öfterem Umkrystallisieren kein scharfer Schmelzpunkt erreicht werden. Aus Essigester krystallisiert, schmolz die Substanz bei 210 bis 220°, aus Eisessig erniedrigte sich der Schmelzpunkt auf 197

bis 200°. Zur Weiterverarbeitung ist die Substanz jedoch nach zweimaliger Krystallisation aus Eisessig, aus dem sie in schönen, schwach gelben Blättchen erscheint, genügend rein. Ausbeute 33 Proc.

Methylester der gelben Säure. Die Säure wird in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Nach 3-stündigem Stehen wird der Äther abgedampft, wobei sich der Ester in feinen Nadeln abscheidet. Zweimalige Umkrystallisation aus Eisessig oder Benzol-Methanol erhöht den Schmelzpunkt auf 191—192°. Die Substanz ist schwach gelb und behielt die Farbe auch nach Filtration durch Aluminiumoxyd. Mit Permanganat, Brom und Tetranitromethan ist keine Doppelbindung nachweisbar. Die Liebermann-Burchardsche Farbreaktion ist anders als die des Kryptosterins, nämlich gelb-orange — langsam rötlich werdend. Wurde die Substanz aus Essigester krystallisiert, so wurde der Schmelzpunkt ähnlich wie bei der freien Säure etwas höher, aber unschärfer. Er lag dann bei 190—199°. Auf die Verbrennung hat diese Tatsache aber keinen Einfluß, da aus Eisessig krystallisierter Ester die gleichen Werte zeigte, wie die aus Essigester gewonnene Substanz.

4,270, 4,398, 4,528, 4,393 mg Subst. (bei 100° i. Hochv. getr.): 11,760, 12,090, 12,460, 12,080 mg CO_2; 3,16, 3,28, 3,33, 3,23 mg H_2O. — 4,268, 5,163 mg Subst.: 1,22, 1,54 ccm 0,0338 n-$Na_2S_2O_3$.

	$C_{36}H_{48}O_6$ (576)		
Ber.	C 74,95	H 8,4	OCH_3 5,4
	$C_{35}H_{46}O_6$ (562)		
Ber.	C 74,7	H 8,3	OCH_3 5,5
Gef.	„ 75,11, 74,97, 75,05, 75,00	„ 8,28, 8,35, 8,23, 8,23	„ 5,2, 5,0.

Oxydiketocarbonsäure $C_{28}H_{42}O_5$. 3-stündige Verseifung mit 3-proc. methylalkoholischer Kalilauge bildet aus der Benzoatsäure, sowie aus deren Ester die freie Säure. Sie krystallisiert aus Essigester und Eisessig in schwach gelben Nadeln bzw. Blättchen, die bei 201—203° schmelzen. Die Säure ist ebenso wie die Benzoatsäure vollkommen gesättigt. Zur Analyse muß sehr sorgfältig getrocknet werden, da die Säure hartnäckig Lösungsmittel festhält; erst nach 6-stündigem Trocknen bei 140° i. Hochv. wurden übereinstimmende Werte erhalten.

4,330, 4,178 mg Subst. (bei 140—155° i. Hochv. getr.): 11,635, 11,225 mg CO_2, 3,56, 3,43 mg H_2O.

$C_{28}H_{42}O_5$ (458)	Ber.	C 73,30	H 9,26
$C_{27}H_{40}O_5$ (444)	„	„ 73,0	„ 9,1
	Gef.	„ 73,29, 73,27	„ 9,20, 9,18.

13,0 mg Subst. verbrauchen 1,37 ccm 0,02071 n-NaOH.
Molekulargew.: Gef. 458.

Veresterung mit Diazomethan ergab den *Methylester* der Säure, der aus Methanol in gelben, weichen Nadeln vom Schmelzp. 176—177° krystallisiert.

Triketocarbonsäure-methylester. 50 mg Säure wurden in 5 ccm stabilem Eisessig gelöst und unter Kühlung mit einer Lösung von 25 mg Chromsäure in 1 ccm Eisessig versetzt. Dann wurde $2^1/_2$ Stunden auf 50° erwärmt, reduziert, mit Wasser verdünnt und abgesaugt. Die Säure wurde in Äther gelöst, mit Diazomethan verestert und nach einigen Stunden aus Methanol krystallisiert. Der Ester kommt aus diesem Lösungsmittel in spitz zulaufenden Blättchen von gelber Farbe. Schmelzp. 155°. Mischschmelzpunkt mit dem Ester der aus Kryptosterin durch Oxydation gewonnenen Säure ohne Depression.

Zu dieser Reaktion wurde 1 g Kryptosterin in 100 ccm Eisessig bei 80° unter Rühren mit einer Lösung von 2 g Chromsäure in 50 ccm Eisessig versetzt. Nach 3 Stunden wurde das überschüssige Oxydationsmittel entfernt, mit Wasser gefällt und abgesaugt. Das Oxydationsprodukt wurde in Äther gelöst und mit 1 n-Natronlauge ausgezogen. Es fielen schwer lösliche Natriumsalze aus, die jedoch nicht krystallisierten. Sie wurden abgesaugt, die Säuren durch Ansäuern in Freiheit gesetzt und mit Diazomethan verestert. Der Ester krystallisiert aus Methanol in gelben Blättchen vom Schmelzp. 154—155°.

3,567 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 9,623 mg CO_2, 2,760 mg H_2O.

$C_{29}H_{42}O_5$ (470)	Ber.	C 73,95	H 9,0
$C_{28}H_{40}O_5$ (456)	„	„ 73,62	„ 8,85
	Gef.	„ 73,58	„ 8,66.

Oxydation von Kryptosterin mit H_2O_2–OsO_4.

1 g Kryptosterin wird in absolutem, peroxydfreiem Äther gelöst und mit ätherischer Hydroperoxydlösung versetzt. Um

eine bleibende Oxydationswirkung zu erzielen, waren pro Mol Kryptosterin etwa 16 Mol Hydroperoxyd nötig. Den zum Auflösen des Ausgangsmaterials benötigten Äther bemißt man so, daß zweckmäßig das gesamte Lösungsmittel 150—160 ccm beträgt. In konzentrierterer Lösung verläuft die Reaktion in anderer Richtung, wie weiter unten gezeigt wird.

Die Lösung wird mit einer Auflösung von 100 mg Osmiumtetroxyd in etwas Äther versetzt, worauf sie sich nach kurzer Zeit rötlich, dann gelbbraun färbt. Das Reaktionsgemisch wird nun 40 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach dieser Zeit wird mit $^n/_1$-Natronlauge mehrmals ausgeschüttelt, wobei die dunkel gefärbte Osmiumsäure in die Lauge geht. Die vereinigten Laugenauszüge werden nochmals mit Äther gewaschen und nach dem Abtrennen des Äthers mit verdünnter Salzsäure zur kongosauren Reaktion gebracht. Dabei färbt sich die Lösung sehr stark dunkel, und die organische Säure fällt aus. Durch Erwärmen mit etwas Perhydrol wurde sie entfärbt, abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Mehrfache Umkrystallisation aus Eisessig oder Dioxan ergab die reine Säure vom Schmelzp. 260—261° in langen breiten Nadeln. Sollte die Substanz noch nicht ganz weiß sein, so läßt sie sich auch aus perhydrolhaltigem Eisessig umkrystallisieren. Die Säure ist gesättigt gegen Kaliumpermanganat und Tetranitromethan und gibt bei der Liebermannschen Farbreaktion eine gelbe Färbung.

2,848, 4,488, 4,270 mg Subst. (bei 80° i. Hochv. getr.): 8,046, 12,659, 12,075 mg CO_2; 2,500, 4,138, 4,065 mg H_2O.

$C_{25}H_{40}O_3$ (388)	Ber.	C 77,24	H 10,41
	Gef.	„ 77,05, 76,93, 77,12	„ 9,82, 10,31, 10,65.

24,5, 16,9 mg Subst.: 3,00, 2,09 ccm 0,0202 n-NaOH.

Molekulargew.: Gef. 405, 400.

Spez. Drehung 13,9, 11,7 mg Subst. in 2 ccm Chloroform, 1 dm;

$\alpha = +0{,}36°, +0{,}33°$; $[\alpha]_D = +51{,}8°, 51{,}6°$.

Methylester. 70 mg der Säure wurden in Äther–Methanol gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung einige Stunden stehen gelassen. Der Ester krystallisiert aus Eisessig in kurzen

Stäbchen, aus Methanol in langen Nadeln vom Schmelzp. 154 bis 155°.

3,763, 3,258 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 10,626, 9,265 mg CO_2, 3,482, 3,202 mg H_2O.

$C_{26}H_{42}O_3$ (402)	Ber.	C 77,61	H 10,52
	Gef.	„ 77,01, 77,56	„ 10,36, 11,00.

Reaktion in konzentrierter Lösung.

Wurde die Reaktion in konzentrierterer Lösung, in 65 ccm Äther (insgesamt) mit 4 Mol Hydroperoxyd pro Mol Kryptosterin und nur der halben Menge Osmiumtetroxyd, also 50 mg ausgeführt, so schieden sich beim Stehen an der Gefäßwand dicke Krystalle ab, von denen die Lösung nach beendeter Reaktion abgegossen wurde. Diese Krystalle wurden 1-mal aus Eisessig umkrystallisiert, wobei sich der Schmelzp. von 138 bis 140° ergab. Darauf wurde die Substanz in Äther aufgenommen und mit Natronlauge ausgeschüttelt. Nach dem Ansäuern, Absaugen und Trocknen krystallisierte die Säure wieder mit dem Schmelzp. 138—139°, der sich durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Eisessig auf 150—152° erhöhte. Auch diese Säure ist gegen Kaliumpermanganat und Tetranitromethan gesättigt und zeigt eine Liebermann-Reaktion, die von Gelb langsam nach Gelbgrün übergeht.

4,133 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 11,749 mg CO_2, 3,916 mg H_2O.

$C_{26}H_{42}O_3$ (402)	Ber.	C 77,53	H 10,56
	Gef.	„ 77,53	„ 10,60.

Zur Abgrenzung von der anderen Säure bedarf es noch schärferer Kennzeichnung der Unterscheidungsmerkmale.

Aufarbeitung des neutralen Teiles.

Die neutralen Ätherlösungen, aus denen die sauren Produkte ausgeschüttelt waren, wurden mehrfach mit Wasser gewaschen und eingedampft. Es hinterblieben etwa 50 Proz. der eingesetzten Substanz als graues Pulver, das aus Aceton zunächst amorph kam, nach einigen Stunden jedoch in rechtwinkligen Dreiecken durchkrystallisierte. Durch häufiges Umkrystallisieren aus Aceton oder Aceton-Methanol wurde die Substanz schließlich rein weiß mit dem Schmelzp. 138—140° erhalten. Mischschmelzpunkt mit Kryptosterin zeigte eine Depression von 15°. Gegen Tetranitromethan ist sie gesättigt. Von verdünnter Kaliumpermanganatlösung werden einige Tropfen sehr langsam entfärbt. Die Liebermann-Reaktion ist gelb, langsam grün werdend.

3,450 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 10,257 mg CO_2, 3,513 mg H_2O.

$C_{29}H_{48}O_2$ (428)	Ber.	C 81,23	H 11,30
$C_{30}H_{50}O_2$ (442)	„	„ 81,37	„ 11,31
	Gef.	„ 81,01	„ 11,39.

Durch 2-stündiges Kochen mit alkoholischer Semicarbazidlösung wurde das Semicarbazon dargestellt. Das ausgefällte Reaktionsprodukt, das einen Schmelzp. von 190—195° besaß, war in allen Lösungsmitteln sehr leicht löslich und konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden.

Oxydation von Lanosterin mit OsO_4-H_2O_2.

Das angewandte Lanosterin war durch wiederholte Umkrystallisation von Isocholesterinacetat[1]) und nachfolgende Verseifung erhalten. Die Oxydation wurde zunächst ebenso wie beim Kryptosterin ausgeführt und ergab bei einem Ansatz von 1 g 50 mg Säure. Wurde die Reaktion mit größeren Mengen an OsO_4 angesetzt, so stieg die Ausbeute an Säure. Bei äquimolaren Mengen betrug sie 30 Proc. Die Säure wurde wegen Substanzmangel nur bis zum Schmelzp. 255—256° umkrystallisiert und ergab mit der Säure aus Kryptosterin einen Mischschmelzpunkt von 255—256°, also ohne Depression.

3,729 mg Subst. (bei 70° i. V. getr.): 10,641 mg CO_2, 3,568 mg H_2O.

$C_{25}H_{40}O_3$ (388)	Ber.	C 77,24	H 10,41
	Gef.	„ 77,82	„ 10,70.

Spez. Drehung: 19,1, 13,2 mg Subst. in 2 ccm Chloroform, 1 dm;

$$\alpha = +0{,}48°,\ +0{,}35°;\ [\alpha]_D^{22} = +50{,}5°,\ +53{,}2°.$$

Methylester. Die Veresterung wurde mit Diazomethan in Äther-Methanol vorgenommen. Der Ester schmolz konstant bei 154—155°; Mischschmelzpunkt mit dem Ester der Säure aus Kryptosterin bei 154—155°.

Ozonisation von Kryptosterin.

1 g Kryptosterin wurde in 45 ccm Cyclohexan gelöst und bis zur Sättigung ozonisiert. Das ausgefallene Ozonid wurde abgesaugt und in Eisessig mit Pt-Katalysator hydriert. Die Lösung wurde daraufhin der Wasserdampfdestillation unterworfen und das Destillat nach Neutralisation mit $Ba(OH)_2$ mit Wasserdampf erneut destilliert. Im Destillat ließen sich mit Dinitrophenylhydrazin außerordentlich geringe Mengen von roten Nadeln vom Schmelzp. 123° ausfällen, die nicht näher identifiziert werden konnten. Der Destillationsrückstand wurde mit Sodalösung ausgezogen und die darin enthaltenen Säuren nach dem Ansäuern auskrystallisiert. Der Schmelzpunkt aus Eisessig lag bei 256—258° und der der Mischung

[1]) Für die Überlassung von „Isocholesterin" sind wir der Firma C. F. Boehringer u. Söhne, Mannheim zu Danke verpflichtet.

mit der Säure, die durch Osmiumtetroxyd-Oxydation gewonnen war, bei 257—259°. Auch dem äußeren Ansehen nach waren die Krystalle mit denen der Säure vom Schmelzp. 261° identisch.

Wasserabspaltung aus Dihydrokryptosterin.

400 mg Dihydrokryptosterin wurden mit 500 mg Bortrioxyd vermischt und im Hochvakuum bei 0,02 mm und einer Badtemperatur von 340—360° destilliert. Bei 240—258° ging ein in Äther leicht lösliches Öl über. Es ließ sich aus Aceton–Methanol umkrystallisieren und zeigte einen konstanten Schmelzpunkt von 141—142°. Die Mischung mit dem Ausgangsmaterial schmolz bei 118—122°. Die Verbindung, *Kryptostadien*, ist ungesättigt gegen Tetranitromethan und Kaliumpermanganat und zeigt eine Liebermann-Burchardsche Farbreaktion von Rosaviolett nach Grün umschlagend.

3,957 mg Subst. (bei 80° i. V. getr.): 12, 715 mg CO_2, 4,348 mg H_2O.

$C_{30}H_{50}$ (410)	Ber.	C 87,72	H 12,28
	Gef.	„ 87,64	„ 12,29.

Die Oxydation mit Kaliumpermanganat in Eisessig ergab eine bei 69—70° schmelzende Verbindung, deren Analyse ebenfalls zur Formel $C_{30}H_{50}$ führt und die somit einen isomeren Kohlenwasserstoff darstellt. Es scheint eine Umlagerung erfolgt zu sein.

3,953 mg Subst.: 12,724 mg CO_2, 4,284 mg H_2O.

$C_{30}H_{50}$ (410)	Ber.	C 87,72	H 12,28
	Gef.	„ 87,79	„ 12,13.

Lebenslauf.

Am 26. Februar 1912 wurde ich als Sohn des Assekuranzmaklers Otto Joost und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Lafrenz in Hamburg geboren. Von 1918 bis 1922 besuchte ich die Vorschule von Bertram in Hamburg und kam anschließend auf die Gelehrtenschule des Johanneums in Hamburg, auf der ich bis 1924 blieb. Von 1924 ab besuchte ich das Wilhelm-Gymnasium in Hamburg, auf dem ich nach einer 3/4-jährigen Unterbrechung im Jahre 1929, die ich im Landschulheim Neubeuern verbrachte, zu Ostern 1930 die Reifeprüfung ablegte. Von April 1930 bis April 1931 war ich bei der Firma C.H.Boehringer Sohn A.-G. Hamburg in der kaufmännischen Abteilung tätig. Seit dem Sommersemester 1931 widmete ich mich dem Studium der Chemie in München an der Universität, wo ich am 9. Dezember 1933 das erste und am 17. April 1936 das zweite Verbandsexamen bestand. Anschließend begann ich unter der Leitung von Herrn Geheimrat Professor Dr. H. W i e l a n d mit der Ausführung meiner Doktorarbeit, die im Dezember 1938 abgeschlossen wurde.